

# High-sensitivity cardiac troponins in health and disease

Citation for published version (APA):

Klinkenberg, L. J. J. (2016). *High-sensitivity cardiac troponins in health and disease*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20160304lk>

## Document status and date:

Published: 01/01/2016

## DOI:

[10.26481/dis.20160304lk](https://doi.org/10.26481/dis.20160304lk)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## Summary Samenvatting

## Summary

The diagnosis of acute myocardial infarction (AMI) relies strongly on the release of cardiac troponins (cTn) (either cardiac troponin I [cTnI] or T [cTnT]) into the bloodstream, which are the preferred biomarkers of myocardial injury. Recent improvement in the analytical performance of the troponin assays resulted in more accurate and sensitive detection of circulating cTn. These high-sensitivity (hs) assays are therefore able to detect cTn in almost every individual of the general population, enabling a precise determination of the 99<sup>th</sup> percentile cut-off value for the diagnosis of AMI. The clinical introduction of the hs-cTn assays resulted in improved diagnostic sensitivity for AMI and therefore expedited an early initiation of evidence-based treatment and management. However, this improved sensitivity for AMI has come at a cost of specificity. Elevations of cTn exceeding the diagnostic cut-off for AMI are now detected in patients with acute or chronic cardiomyocyte injury other than AMI, and these elevations are invariably associated with adverse outcomes. Therefore, the universal definition of AMI relies on the detection of a rise and/or fall of cTn above the 99<sup>th</sup> percentile value of a healthy reference population in conjunction with typical clinical findings of ischemia. There is no consensus about the specific magnitude of change required to diagnose AMI, although a minimum of a 20% change has been suggested as a rule of thumb. In addition, the accurate detection of hs-cTn in almost every healthy individual of the general population has expanded the possible use of cTn from diagnosis to prognosis. The single exception where it is unclear whether cTn are linked to adverse outcomes is the release of cTn associated with an acute bout of endurance-type exercise. The aim of this thesis was to increase our understanding on how to interpret hs-cTnT and hs-cTnI concentrations in settings of serial testing (*chapters 2 and 3*), prognostic medicine (*chapter 4*) and endurance-type exercise (*chapters 5, 6 and 7*).

*Chapter 1* provides a general introduction on cTn, hs assays and the use of hs-cTn in the diagnosis of AMI. Moreover, it discusses the role of serial cTn testing, and the use of biological variation studies in healthy individuals. In addition, the prognostic value of cTn in acute and chronic settings of myocardial injury is described. Furthermore, this chapter provides an overview regarding exercise-induced cTn release, potential contributing mechanisms and strategies to study cTn release in response to exercise.

While hs-cTnI and hs-cTnT are not specific for any particular mechanism of myocardial injury, the critical tool for the diagnosis of AMI is the detection of a 'rise and/or fall' in serially obtained results of hs-cTn. A critical assumption when interpreting kinetic changes is that serial measurements of hs-cTn – in clinically stable conditions – display true random variation around an individual's homeostatic set point. *Chapter 2* challenges this critical assumption. Specifically, in a biological variation study with 23 male sub-

jects with type 2 diabetes, this chapter shows that circulating hs-cTnT exhibits a gradual decrease during the day. The presence of a diurnal rhythm was confirmed by hourly sampling 7 male subjects with type 2 diabetes over 25h. This diurnal variation is characterized by gradually decreasing values throughout daytime, rising concentrations during nighttime, to peak concentrations in the morning hours. In addition, this chapter demonstrates that the violation of the assumption of random variation has direct consequences for the calculation of the reference change value (RCV), a statistically derived threshold-value based on biological and analytical variation, that distinguishes 'true changes' from 'noise'. Due to the diurnal rhythm of hs-cTnT, the calculated RCV depends strongly on the timeframe chosen. In a period of 'high level changes' (8:30 AM - 12:30 PM ) the RCV is more than twice the RCV in a period of 'low level changes' (4:30 PM - 8:30 PM).

*Chapter 3* validates the diurnal rhythm of hs-cTnT as a universal phenomenon in subjects without acute cardiovascular disease, by hourly sampling of 17 additional men and women over 25h with normal glucose homeostasis. Since the diurnal fluctuation of hs-cTnT in some individuals exceeded the suggested delta criteria of 20% for AMI, these physiological fluctuations have the potential to be interpreted as biochemical evidence of myocardial injury. Therefore, this chapter additionally evaluates whether the diurnal rhythmic oscillation has effect on the diagnostic accuracy of hs-cTnT for AMI. In a multi-center diagnostic trial of 2782 unselected patients presenting to the cardiac emergency department with acute chest pain, this chapter shows that characteristics of the diurnal rhythm persist in real-life chest pain patients with an adjudicated diagnosis of non-cardiac disease, by significantly higher levels in patients presenting in the early-morning hours compared to patients presenting to the cardiac emergency department in the evening. Nevertheless, the overall effect of the diurnal hs-cTnT rhythm on the diagnostic accuracy for AMI is fortunately rather small. The diagnostic accuracy of hs-cTnT for AMI at presentation, 1h and the combination of absolute changes with presenting concentrations is very high and independent on the timeframe of patient presentation to the cardiac emergency department. Nevertheless, this chapter shows that the timeframe of patient presentation was more pronounced in patients presenting early after the onset of chest pain and reached statistical significance. In patients presenting in the evening, where the physiological rhythm displays minor fluctuations, absolute changes of hs-cTnT within 1h have a significant higher diagnostic accuracy compared to patients presenting in the early-morning, where the diurnal hs-cTnT rhythm displays a high level phase. Therefore, the presence of a diurnal rhythm may provide an explanation in isolated cases of patients where the clinical assessment is discordant with biochemical hs-cTnT kinetics. In addition, this chapter shows that hs-cTnI displays random fluctuations during day and night and that the timeframe of patient presentation has no effect on the diagnostic accuracy of hs-cTnI for AMI.

The accurate detection of cTn in almost every apparently healthy individual from the general population has expanded the possible use of cTn from diagnostic care to prognostic medicine. *Chapter 4* quantifies the relationship between basal levels of hs-cTn and all-cause mortality during follow-up in the general population in a systematic manner. By a meta-regression analysis of nine studies, this chapter demonstrates a trend towards a better prognostic value of hs-cTnT compared to hs-cTnI.

Endurance-type exercise is currently the only stimulus of cTn release where it is unclear whether the post-exercise levels exceeding the diagnostic cut-off for AMI mirror a physiological or pathological underlying process. Several components of the altered physiological environment of the cardiomyocytes during exercise have been suggested as contributing mechanism, such as increased mechanical stress, elevations in reactive oxygen species and an imbalance between oxygen supply and demand. The aim of *chapters 5, 6, and 7* was to study the heterogeneity and cTn release within and between individuals and the underlying mechanism of exercise-induced cTn release. *Chapter 5* describes hs-cTnT levels measured in 31 male athletes during two identical highly standardized cycling trials. By a very strong correlation of post-exercise levels during both trials, this chapter demonstrates that exercise-induced hs-cTnT is a reproducible phenomenon. *Chapter 6* consists of a double-blind randomized controlled trial, where the effect of 4 weeks antioxidant supplementation was investigated on hs-cTnT release induced by a standardized cycling trial. This chapter demonstrates that exercise-induced hs-cTnT concentrations were not affected by antioxidant supplementation. The aim of *chapter 7* was to study the effect of remote ischemic preconditioning (RIPC), a cardio-protective strategy that limits ischemia-reperfusion injury, on the kinetics of hs-cTnI and hs-cTnT following a 30 km running trial in 25 healthy volunteers. The application of four cycles of temporal episodes of unilateral upper arm ischemia (occlusion to  $\geq 220$  mm Hg) followed by reperfusion (non-occlusion) before the 30km run had no effect on the release kinetics of hs-cTnI and hs-cTnT. In addition, this chapter shows by serially sampling post-exercise that hs-cTnT levels peak earlier than hs-cTnI levels, which is different from the release kinetics in AMI, where peak-levels are reached at similar hours post-admission. All together these findings suggest that cTn release following endurance-type exercise may be a physiological process.

*Chapter 8* provides a general discussion of the work described in this thesis. This chapter discusses the diurnal rhythm of hs-cTnT in cardiovascular physiology and pathology. Furthermore, the differences between hs-cTnI and hs-cTnT in terms of their diurnal variation are discussed on the basis of the release and clearance rates. Differences between hs-cTnI and hs-cTnT in terms of their risk stratification are additionally described. Moreover, the clinical significance and the mechanisms of exercise-induced cTn release are reviewed. Finally, directions towards future research are provided.

## Samenvatting

De diagnose acuut myocardiinfarct (AMI) is gebaseerd op het vrijkomen van cardiale troponines (cTn) (cardiaal troponine I [cTnI] of T [cTnT]) in de bloedsomloop. Deze hart specifieke eiwitten zijn de gouden standaard voor het aantonen van myocardschade. Met de introductie van meer accurate en sensitieve cTn testen is het voor het eerst mogelijk om cTn in de bloedsomloop van gezonde personen te detecteren. Hierdoor wordt de diagnostische afkappwaarde voor een AMI, gedefinieerd als de 99<sup>e</sup> percentiel concentratie van een gezonde controle groep, nauwkeuriger vastgesteld. Door het gebruik van deze hoog-sensitieve (hs) cTn testen in de diagnostiek is de sensitiviteit verbeterd, waardoor patiënten met een AMI sneller gediagnosticeerd en dus ook eerder behandeld kunnen worden. Deze toename in sensitiviteit gaat helaas gepaard met een afname in specificiteit. Met het gebruik van de hs testen worden ook verhoogde hs-cTn concentraties – boven de diagnostische afkappwaarde – gevonden bij patiënten met andere acute of chronische aandoeningen dan een AMI. Om een AMI te diagnosticeren dient er volgens de universele definitie van AMI sprake te zijn van een stijging en/of daling in hs-cTn waarden, waarbij ten minste één van deze serieel gemeten concentraties is gestegen tot boven de 99<sup>e</sup> percentiel waarde, samen met andere typische klinische tekenen van ischemie. Het exacte concentratieverschil als afkappwaarde voor de diagnose van een AMI wordt in deze definitie niet besproken, hoewel een 20% verandering wel als vuistregel wordt genoemd in de literatuur. Behalve voor de diagnostiek blijken cTn ook een rol te spelen als risicovoorspeller voor (cardiovasculaire) morbiditeit en mortaliteit. Deze prognostische waarde is van belang voor het gehele spectrum van hs-cTn concentraties gemeten in verschillende populaties, van hele lage waarden gemeten in het bloed van gezonde personen tot de specifieke hs-cTn verhogingen gemeten in patiënten met andere aandoeningen dan een AMI. Echter, de prognostische waarde van hs-cTn concentraties gemeten in individuen uit de algemene bevolking is nog niet systematisch onderzocht. Daarnaast is de klinische en prognostische relevantie van hs-cTn verhogingen gemedieerd door het beoefenen van duursport vooralsnog onbekend. Het doel van dit proefschrift is om kennis over de interpretatie van hs-cTnT en hs-cTnI te vergroten in het geval van serieel meten (*hoofdstuk 2 en 3*), prognose (*hoofdstuk 4*) en duursport (*hoofdstukken 5, 6 en 7*).

*Hoofdstuk 1* geeft een algemene introductie over cTn, hs testen en het gebruik van deze testen in de diagnostiek van een AMI. Daarnaast wordt serieel meten van hs-cTn beschreven als manier om de specificiteit voor een AMI te vergroten en in het bijzonder de rol van biologische variatie bij het bepalen van het exacte concentratieverschil als afkappwaarde. Bovendien wordt de prognostische waarde besproken van hs-cTn verhogingen in patiënten met andere acute en chronische aandoeningen dan een AMI. Ten

slotte geeft dit hoofdstuk een overzicht over de release van cTn tijdens en na het beoefenen van duursport. Tevens worden de mogelijke mechanismen die hieraan ten grondslag liggen besproken, evenals strategieën om inspanning gemedieerde cTn release te onderzoeken.

Verhoogde hs-cTn concentraties zijn niet specifiek voor myocardschade veroorzaakt door acute ischemie. Hierdoor is serieel meten van hs-cTn concentraties van belang voor de diagnostiek van een AMI. Een belangrijke aanname bij de interpretatie van seriële waarden is dat – in individuen met een klinisch stabiele conditie – hs-cTn concentraties willekeurig fluctueren rondom een evenwicht. Deze essentiële aanname wordt bekritiseerd in *hoofdstuk 2*. Dit hoofdstuk beschrijft door middel van een biologische variatie studie in 23 mannen met diabetes type 2 dat hs-cTnT concentraties een geleidelijke daling vertonen gedurende de dag. Een dag-nacht ritme in hs-cTnT werd vervolgens bevestigd door ieder uur bloed af te nemen bij 7 mannen met diabetes type 2 gedurende een periode van 25 uur. Dit dag-nacht ritme bestaat uit een geleidelijke daling in hs-cTnT concentraties overdag, gevolgd door een stijging tijdens de nacht, tot piek concentraties in de ochtenduren. Deze onwillekeurige variatie beïnvloedt in sterke mate de berekening van het kritisch verschil ('reference change value'), een vastgestelde delta afkapwaarde die op basis van de biologische en analytische variatie 'echte veranderingen' onderscheidt van 'ruis'. In een periode van 'grote fluctuaties' (8:30 - 12:30 uur) is het kritisch verschil namelijk twee keer zo groot als het kritisch verschil in een periode met 'kleine fluctuaties' (16:30 - 20:30 uur). Door de aanwezigheid van een dag-nacht ritme in hs-cTnT concentraties is het kritisch verschil dus sterk afhankelijk van het gekozen tijdsbestek.

*Hoofdstuk 3* valideert het dag-nacht ritme in hs-cTnT concentraties als een universeel fenomeen. Dit hoofdstuk beschrijft het dag-nacht ritme van hs-cTnT in een additionele groep van 17 mannen en vrouwen met een normale glucose huishouding. Deze onwillekeurige fluctuaties zijn van dusdanige orde dat ze de 20% afkapwaarde overtreffen. Hierdoor kunnen fysiologische fluctuaties ten onrechte geïnterpreteerd worden als biochemisch bewijs van myocardschade. Het effect van een dag-nacht ritme op de diagnostische waarde voor een AMI is onderzocht aan de hand van een multicenter onderzoek van 2782 ongeselecteerde eerste hart hulp patiënten met klachten van pijn op de borst. Dit hoofdstuk laat zien dat patiënten waarbij een cardiale aandoening is uitgesloten ook aspecten vertonen van het dag-nacht ritme. In deze patiëntengroep hebben namelijk individuen die in de vroege ochtenduren arriveren op de eerste hart hulp met klachten van pijn op de borst significant hogere hs-cTnT concentraties vergeleken met individuen die in de avonduren arriveren op de eerste hart hulp. Desondanks is de diagnostische waarde van hs-cTnT erg hoog en onafhankelijk van het tijdsbestek van binnenkomst op de eerste hart hulp, zoals bepaald aan de hand van hs-cTnT concentraties bij binnenkomst, 1 uur later en de absolute veranderingen binnen 1 uur

gecombineerd met de concentratie bij binnenkomst. Echter, dit hoofdstuk laat zien dat het tijdsbestek van binnenkomst op de eerste hart hulp een uitgesproken effect heeft in patiënten die snel op de eerste hart hulp arriveren na het ontstaan van pijn op de borst klachten. De diagnostische prestatie van absolute veranderingen in hs-cTnT concentraties binnen 1 uur na binnenkomst is namelijk significant beter bij binnenkomst in de avonduren, een tijdsbestek van relatief kleine fysiologische fluctuaties in vergelijking tot binnenkomst in de ochtenduren, een tijdsbestek van relatief grote fysiologische fluctuaties. Hierdoor is het dag-nacht ritme een mogelijke verklaring voor patiënten waarbij de klinische presentatie niet overeenkomt met seriële hs-cTnT concentraties. Daarnaast beschrijft dit hoofdstuk dat hs-cTnI wél random fluctueert gedurende dag en nacht. Bovendien heeft het tijdsbestek van binnenkomst op de eerste hart hulp geen effect op de diagnostische prestatie van hs-cTnI.

Behalve voor de diagnostiek blijken cTn ook een rol te spelen als risicovoorspeller voor (cardiovasculaire) morbiditeit en mortaliteit. *Hoofdstuk 4* beschrijft een systematische evaluatie van de prognostische waarde van lage hs-cTn concentraties voor mortaliteit. Dit hoofdstuk is een meta-analyse van 9 studies die de prognostische waarde van hs-cTnT en/of hs-cTnI concentraties onderzochten in gezonde individuen van de algemene bevolking. De meta-analyse beschrijft een trend voor een betere prognostische waarde van hs-cTnT ten opzichte van hs-cTnI.

Vooralsnog is de klinische en prognostische relevantie van duursport gemedieerde cTn release onbekend. In het bijzonder is het nog onduidelijk of de verhoogde hs-cTn concentraties het gevolg zijn van reversibele of irreversibele myocardschade. Hiervoor is het belangrijk om te vast te stellen welk mechanisme ten grondslag ligt aan het vrijkomen van cTn uit de hartspiercellen. Mogelijke mechanismen die in de literatuur genoemd worden zijn verhoogde mechanische belasting van de hartspiercellen, verhoogde reactieve zuurstofradicalen in het milieu van de hartspiercellen en een verstoring in het evenwicht tussen zuurstofaanvoer en -behoefte van de hartspiercellen. Het doel van de *hoofdstukken 5, 6 en 7* was het bestuderen van de heterogeniteit in duursport gemedieerde cTn release op individueel en groeps niveau, evenals het onderliggend mechanisme. *Hoofdstuk 5* beschrijft hs-cTnT concentraties gemeten in 31 mannelijke atleten tijdens twee identieke gestandaardiseerde fietstesten. Dit hoofdstuk toont aan dat inspanning gemedieerde cTn release een reproduceerbaar fenomeen is door de sterke correlatie tussen de hs-cTnT waarden direct gemeten na het einde van beide inspanningstesten. *Hoofdstuk 6* bestaat uit een dubbelblind gerandomiseerde studie waarbij het effect van 4 weken antioxidant suppletie onderzocht werd op hs-cTnT release gemedieerd door een gestandaardiseerde fietstest. Dit hoofdstuk concludeert dat inspanning gemedieerde hs-cTnT release niet beïnvloed wordt door antioxidant suppletie. Het doel van *hoofdstuk 7* was om het effect van ischemische preconditionering te bestuderen op de kinetiek van hs-cTnI en hs-cTnT gemedieerd door een duurloop van



30 km. Dit hoofdstuk bestaat uit een enkelblind gerandomiseerde studie van 25 gezonde getrainde vrijwilligers waarbij ischemische preconditionering toegepast werd door middel van een bloeddrukband om één van de bovenarmen. Het toepassen van vier kortdurende cycli van ischemie (5 minuten occlusie tot minimaal 220 mm Hg) gevolgd door reperfusie (5 minuten geen occlusie) voorafgaand aan de duurloop van 30 km had geen effect op de release kinetiek van hs-cTnI en hs-cTnT. Daarnaast laat dit hoofdstuk zien dat de kinetiek van hs-cTnI en hs-cTnT gemedieerd door duursport verschilt van de kinetiek in het geval van een AMI. Bij de 30 km duurloop worden piek concentraties van hs-cTnT eerder waargenomen na het beëindigen van de inspanning dan piek concentraties van hs-cTnI. Dit is verschillend van een AMI waar piek concentraties van hs-cTnT en hs-cTnI worden waargenomen op vergelijkbare tijdstippen na binnenkomst op de eerste hart hulp. De resultaten van deze hoofdstukken suggereren dat het mechanisme van inspanning gemedieerde cTn release verschilt van cTn release in het geval van een AMI.

*Hoofdstuk 8* bevat een algemene discussie over de in dit proefschrift beschreven resultaten en de mogelijkheden voor toekomstig onderzoek. In dit hoofdstuk wordt het dag-nacht ritme besproken in relatie tot de cardiovasculaire fysiologie en pathologie. Verschillen in de dag-nacht variatie tussen hs-cTnI en hs-cTnT worden bediscussieerd aan de hand van het vrijkomen van cTn uit de hartspiercellen en de klaring van cTn uit de circulatie. Daarnaast worden verschillen in de prognostische waarde van hs-cTnI en hs-cTnT besproken. Ten slotte wordt de klinische relevantie en het mechanisme van inspanning gemedieerde cTn release besproken.

